



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

DÉBORA ALENCAR MAGALHÃES  
FERNANDA MACHADO DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE MOUSSE DE TAMARINDO VEGANO A PARTIR DE  
BASE DE MANDIOCA E DE EXTRATO DE AMÊNDOAS: CARACTERIZAÇÃO  
MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E COMO CARREADOR DE  
PROBIÓTICO**

Brasília - DF

2018

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

DÉBORA ALENCAR MAGALHÃES  
FERNANDA MACHADO DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE MOUSSE DE TAMARINDO VEGANO A PARTIR DE  
BASE DE MANDIOCA E DE EXTRATO DE AMÊNDOAS: CARACTERIZAÇÃO  
MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E COMO CARREADOR DE  
PROBIÓTICO**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Nutrição da UnB  
como requisito parcial para obtenção do  
título de Bacharel em Nutrição.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Eliana dos Santos  
Leandro

Brasília - DF

2018

DÉBORA ALENCAR MAGALHÃES  
FERNANDA MACHADO DA SILVA

## DESENVOLVIMENTO DE MOUSSE DE TAMARINDO VEGANO PROBIÓTICO

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Nutrição da UnB  
como requisito parcial para obtenção do  
título de Bacharel em Nutrição.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana dos Santos  
Leandro

Aprovado em: 07/12/2018

### BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliana Santos Leandro  
(Orientadora)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Raquel Braz Assunção Botelho  
(Avaliador 1)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sandra Fernandes Arruda  
(Avaliador 2)

**Dedicatória:**

Agradecemos em primeiro lugar a Deus que iluminou nosso caminho durante esta caminhada.

Agradecemos a nossa professora orientadora que teve paciência e que nos ajudou bastante a concluir este trabalho, agradecemos também aos nossos professores que durante muito tempo nos ensinaram e compartilharam os conhecimentos. Aos nossos pais, irmãos e a toda família e amigos que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que concluíssemos mais esta etapa de nossas vidas.

## RESUMO

**Introdução:** Atualmente, é progressivo o crescimento de adeptos ao veganismo. Acompanhando essa tendência, as preocupações quanto a saúde e bem-estar também aumentam na população. Neste contexto, os alimentos funcionais ganham mais visibilidade no mercado, e a indústria de laticínios investe cada vez mais em novos produtos adicionados de probióticos. No entanto, há uma carência destes, para o público vegano, visto que sua maioria vem associada a laticínios. **Objetivo:** desenvolver e caracterizar em termos microbiológicos e de composição química diferentes formulações de mousse de tamarindo vegano probiótico. **Materiais e métodos:** estudo de caráter experimental qualitativo e quantitativo, com a elaboração das diferentes formulações de mousse, análise de composição química, determinação de vida de prateleira, submissão das diferentes formulações ao estresse ácido e sais biliares e determinação da viabilidade dos probióticos. **Resultados/Discussão:** pode-se notar que a adição de tamarindo ao mousse promoveu a redução da umidade, aumentou o teor de carboidratos, aumentou o teor de sódio, potássio e cálcio à medida que aumentava a concentração de tamarindo na formulação. Observou-se que aumento do percentual de tamarindo contribuiu com o aumento da sensibilidade ao estresse ácido, mas a redução não compromete a funcionalidade do produto probiótico. A população de bolores e leveduras em todas as formulações após o preparo apresentou baixa, e após 5 dias de estocagem sob refrigeração a população contaminante manteve-se baixa, dessa forma, não há a necessidade de se pasteurizar o alimento e isso leva a uma alta quantidade de vitaminas e compostos fenólicos presentes no produto final. **Considerações finais:** o produto desenvolvido, pode ser utilizado como um carreador probiótico, sendo um produto com características antimicrobianas, além de ser uma excelente fonte de carboidrato, cálcio e potássio, podendo se tornar uma ótima opção para aqueles que escolhem ou possuem restrições alimentares.

**Palavras-chaves:** probiótico; tamarindo; vegano; mousse.

## ABSTRACT

**Introduction:** Nowadays, the number of adherents to veganism are growing. In this context, functional foods gain visibility in the market, and the dairy industry is increasingly investing in new products added probiotics. However, there is a lack of these, for the vegan public, since its majority comes associated with dairy products. **Objective:** to develop and characterize in microbiological and chemical terms, probiotic vegan tamarind mousse formulations. **Materials and methods:** experimental and quantitative study, with the analysis of different mousse formulations, chemical appearance analysis, shelf life evaluation, submission of the formulations to acid stress and bile salts, and determination of the viability of probiotics. **Results/Discussion:** It was observed that the addition of tamarind in the mousse promoted the reduction of moisture, the increased the carbohydrate content, increased the sodium, potassium and calcium. The increasing of percentage of tamarind contributed to the grow sensitivity to acid stress, but this reduction did not compromise the functionality of the probiotic product. The population of molds and yeasts in all formulations after the preparation was low, and after 5 days of storage under refrigeration the contaminant population remained low, in this way, there is no need to pasteurize the product and this leads to a high amount of vitamins and phenolic compounds present in the final product. **Conclusions:** the product developed can be used as a probiotic carrier, being a product with antimicrobial characteristics, besides being an excellent source of carbohydrates, calcium and potassium. This mousse can become a great choice for people who choose, vegan, or have food restrictions, allergy to cow's milk protein.

**Key words:** probiotic; tamarind; vegan; mousse.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fruto, polpa, sementes e sementes descascadas do Tamarindo.....	20
--	----

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição química, cor e teor de minerais em mousse elaborado com mandioca, extrato de amêndoa concentrado e polpa de tamarindo.....	29
<b>Tabela 2.</b> Efeito do meio de reidratação do probiótico liofilizado após a incorporação nas diferentes formulações de mousse de tamarindo.....	32
<b>Tabela 3.</b> Sobrevivência da cultura probiótica adicionada nas diferentes formulações de mousse a condição de estresse ácido.....	33
<b>Tabela 4.</b> Sobrevivência da cultura probiótica em diferentes formulações de mousses expostas a condições de estresse pela presença de sais biliares.....	35
<b>Tabela 5.</b> Análises de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras das formulações de mousse.....	37



## SUMÁRIO

1. Introdução.....	11
2. Justificativa do estudo.....	13
3. Revisão bibliográfica .....	14
3.1 Alimentação, nutrição e saúde .....	14
3.1.1 Veganismo.....	15
3.1.2 Alimentos funcionais .....	15
3.2 Bactérias lácticas e probióticos .....	16
3.3 Produtos probióticos não lácteos .....	18
3.4 Tamarindo .....	19
4. Objetivos.....	21
4.1 Objetivo geral .....	21
4.2 Objetivos específicos.....	21
5. Metodologia.....	22
5.1 Caracterização do estudo .....	22
5.2 Ingredientes e elaboração do mousse.....	22
5.3 Composição.....	23
5.3.1 Umidade .....	23
5.3.2 Proteínas.....	23
5.3.3 Lipídeos.....	24
5.4 Minerais.....	24
5.4.1 Sódio e Potássio .....	24
5.4.2 Cálcio .....	25
5.5 Análise de Cor .....	25
5.6 Determinação do pH.....	25
5.7 Determinação da vida de prateleira.....	26
5.7.1 Preparo das amostras para análise microbiológica.....	26
5.7.2 Análise de mesófilos aeróbios.....	26
5.7.3 Análise de bolores e leveduras .....	26
5.8 Determinação da viabilidade de probióticos nas diferentes formulações de mousse.....	26
5.9. Estresse ácido e sais biliares.....	27
5.9.1 Estresse ácido .....	27
5.9.2 Estresse por presença de sais biliares.....	28
5.10 Estatística .....	28
6. Resultados e discussão .....	29
6.1. Caracterização da composição e cor das formulações elaboradas com tamarindo.....	29

6.2. Avaliação do meio de reidratação do probiótico liofilizado após a incorporação nas diferentes formulações de mousses de tamarindo. ....	32
6.3. Sobrevivência da cultura probiótica exposta ao estresse ácido e por presença de sais biliares .....	33
6.4. Análise de mesófilos e bolores e leveduras .....	36
7. Considerações Finais .....	39
8. Referências Bibliográficas .....	40

## 1. Introdução

Cada vez mais há o aumento de adeptos ao estilo de vida vegano, ou seja, aqueles que evitam comer qualquer tipo de alimento de origem animal, por gerar conflitos éticos (PEREIRA, 2014). Juntamente com a ascensão desse público, observa-se uma maior preocupação com a população que possui diagnóstico de alergias e intolerâncias alimentares. Tais públicos mencionados encontram dificuldades para se alimentar, devido à falta de opções, seja nos restaurantes e lanchonetes ou até mesmo em mercados, com poucas diversidade e disponibilidade (ALMEIDA, 2015).

Neste contexto, observa-se a tendência da população em modificar o padrão alimentar, visando a saúde e o bem-estar, de acordo com a demanda dos consumidores. Com isso, surge-se também os alimentos funcionais, os quais além de suas funções nutricionais básicas, devem afetar positivamente uma ou mais funções fisiológicas do organismo, o que favorece a saúde do indivíduo (SILVA et al., 2016).

Dentro dos alimentos funcionais, temos aqueles com alegações probióticas, os quais quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do consumidor (FAO; 2002). No entanto, estes produtos geralmente estão associados a laticínios, pois estes contribuem para a sobrevivência dos probióticos ao suco gástrico, particularmente por seu efeito tamponante e protetor (ROSS, DESMOND, STANTON, 2005). Dessa maneira, a indústria de laticínios, encontrou nas culturas probióticas uma ferramenta para o desenvolvimento de novos produtos. Consequentemente, no mercado atual, há inúmeros laticínios probióticos e a variedade desses produtos continua em expansão (CHAMPAGNE, GARDNER, ROY, 2005).

No entanto, o público vegano, intolerante a lactose e alérgico à proteína do leite de vaca fica carente de alimentos probióticos, visto que sua maioria vem associado a laticínios. Neste cenário, o desenvolvimento de produtos sem ingredientes de origem animal, inclusive o leite, que atenda estes públicos, pode favorecer o consumo de probióticos em produtos alimentícios também por eles. As opções não lácteas para adição de probióticos devem se atentar para a matriz alimentar escolhida, atividade de água e pH dos produtos finais, além da escolha de espécies probióticas selecionadas, visto que para os produtos lácteos já possuem estudos acerca do que é funcionante, quanto que para os não lácteos não e por isso devem ser testados para avaliar funcionalidade (CHAIKHAM, et al; 2013).

Neste sentido, vale ressaltar também os benefícios que podem ser encontrados em frutas que quando associadas a probióticos podem ter ainda mais efeitos benéficos. O tamarindo, por

exemplo, possui componentes bioativos importantes que auxiliam no combate contra doenças, na sua composição existem relatos de ácido tartárico, carboidratos, pectinas, pirazinas, tiazóis, e pectinahá. Além disso, ele apresenta características tecnológicas e nutricionais importantes, no entanto, é um produto pouco utilizado pela indústria de alimentos (ABEBE, 2002; SANTOS et al., 2010).

Neste quadro, notou-se a necessidade do desenvolvimento de um novo produto, um mousse vegano de tamarindo com adição de probióticos, visando atender um público mais amplo dentro da sociedade. Associado ao desenvolvimento de um novo produto, houve o estudo e avaliação da viabilidade do probiótico no período de estocagem, e quando submetido às condições gástricas, além da análise de composição de mousse e os benefícios da associação com o tamarindo como agente protetor ou não.

## **2. Justificativa do estudo**

O estudo em questão tem o objetivo de desenvolver um produto vegano com probiótico. Com o crescente número de pessoas adeptas a uma alimentação vegana, além de do crescente número de pessoas com diagnóstico de alergia à proteína do leite e/ou intolerância a lactose, é importante olhar para esse público de alimentação específica, visto que existem poucos produtos no mercado para serem comercializados. O desenvolvimento de um mousse vegano foi para abarcar esse público específico com um alimento que pode ser usado tanto como um lanche, quanto uma sobremesa, na qual o “original” é feito à base de leite, impedindo esse público de consumir determinado produto, com isso, ocorre uma inclusão dessas pessoas, quando se fala de alimentação. A adição do probiótico nesse produto vegano desenvolvido é interessante, dado que, os alimentos probióticos disponíveis estão em matriz láctea ou então são fornecidos na forma liofilizada, logo, esse público em questão, prejudica-se por falta de opção, portanto, um produto probiótico, em uma matriz não láctea, torna-se como uma vitória para esse público específico.

### **3. Revisão bibliográfica**

#### **3.1 Alimentação, nutrição e saúde**

Atualmente, há uma preocupação cada vez maior com as alergias alimentares que se tornam mais presentes na população. Sabe-se que a alergia alimentar é uma reação adversa que ocorre quando o sistema imunológico reconhece um alimento como uma entidade agressora ao organismo. Por outro lado, a intolerância alimentar caracteriza-se por uma reação adversa, que ocorre após a exposição a um determinado alimento, mas não envolve o sistema imunológico (NUNES, 2012).

A intolerância a lactose é causada devido à incapacidade da mucosa intestinal de digerir o carboidrato lactose. Essa má digestão ocorre devido à deficiência da enzima lactase ( $\beta$ -D-galactosidade) ou sua diminuição, quadro de hipolactasia (MATTAR, 2010). A intolerância a lactose pode ser classificada como congênita, primária e secundária. A intolerância congênita acomete, normalmente, bebês que apresentam deficiência de lactase. A intolerância primária é a deficiência de lactase que pode também ser chamada de hipolactasia ou deficiência hereditária de lactase. Já a deficiência secundária é o resultado de lesões intestinais ou devido a alguma doença intestinal (BARBOSA, 2011).

Por outro lado, a alergia às proteínas do leite de vaca (APLV) é a alergia alimentar mais frequente na primeira infância. O tratamento da APLV consiste na eliminação de leite de vaca e derivados da dieta, além de produtos e preparações contendo esses alimentos. Além disso, a dieta de exclusão é relativamente mais onerosa, podendo trazer prejuízos psicossociais à criança, ser inconveniente à família e de difícil monitoração fora do ambiente domiciliar (CALDEIRA et al., 2011; MENDONÇA, 2011).

Há também a alergia ao glúten, está é denominada doença celíaca, a qual é uma doença autoimune caracterizada por uma reação imunológica perante a ingestão de glúten. O glúten é uma substância constituída por frações protéicas que podem ser encontradas no trigo, na aveia, na cevada e no centeio (ARAÚJO et al, 2010).

Após o diagnóstico de doença celíaca o tratamento é fundamentalmente dietético sendo necessária a adoção de uma dieta isenta de glúten. No entanto, os desafios encontrados para instalação e adesão desta dieta são inúmeros, sendo necessárias orientações sobre leitura de rótulos, substituição de alimentos e entre outros (ARAÚJO et al, 2010).

### **3.1.1 Veganismo**

Nota-se a ascendência, no contexto atual, da prática do veganismo. Esta consiste em um conjunto de hábitos que rejeitam qualquer prática ligada ao uso e exploração de animais. Os adeptos a este estilo de vida argumentam que o hábito de comer carne e qualquer alimento de origem animal, como laticínios, ovos e mel, gera conflitos éticos quando relacionado à realidade de industrialização (PEREIRA, 2014).

Neste contexto, torna-se necessário a prática da culinária, muitas vezes, como uma necessidade que surge para os vegetarianos ou veganos. Devido à falta de opções de comida na rua ou até mesmo a fim de preparar refeições para levar à festas e eventos, os vegetarianos e veganos passam a se familiarizar com processos de culinária e aprendem a cozinhar quando optam por essa mudança (ALMEIDA, 2015).

### **3.1.2 Alimentos funcionais**

Um alimento, para ser considerado como funcional, deve, além de suas funções nutricionais básicas, afetar positivamente uma ou mais funções fisiológicas do organismo, o que favorece a saúde do indivíduo, de forma geral, melhorando a qualidade de vida e auxiliando o risco de enfermidades. Com o cenário que a população está inserida de avanço das doenças, com destaque para as Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT's), esses alimentos considerados funcionais têm sido procurados, com a finalidade de satisfazer a população tanto nutricionalmente, quanto como promoção da saúde e redução do risco de adoecer (SILVA et al., 2016).

A expressão “alimentos funcionais” foi originada primeiramente no Japão, nos anos 80. Denominados, também, de alimentos para uso específico de saúde, foi resultado de um programa financiado pelas autoridades japonesas com o intuito de redução dos recursos financeiros direcionados para a saúde pública, como uma alternativa de conter os avanços das doenças crônicas e concomitantemente, diminuir os gastos médicos com tratamento das mesmas. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), em 1999, não define o termo “alimentos funcionais”, mas sim a alegação de propriedade funcional que é uma propriedade relativa ao papel metabólico ou fisiológico que determinado nutriente tem seja no crescimento, desenvolvimento, manutenção do organismo humano. E também, alegação de propriedade de saúde, que é uma propriedade que implica a existência da relação entre alimento com alguma condição relacionada à saúde. Entretanto, para que seja comprovada sua segurança

e eficácia para que seja disponibilizado no mercado, o alimento tem que ser avaliado pela Gerência Geral de Alimentos (GGALI) da Anvisa (SILVA et al., 2016).

Os alimentos funcionais estão cada vez mais como tendência do mercado alimentício, seja por uma busca cada vez maior por dietas saudáveis, o reconhecimento pelas agências reguladoras dos benefícios dos alimentos funcionais para a saúde, a possibilidade de redução de custos médicos no combate das DCNTs por parte do Estado, e, por fim, para as indústrias que investiram em pesquisas e novas tecnologias (SILVA et al., 2016).

### **3.2 Bactérias lácticas e probióticos**

As Bactérias ácido lácticas (BAL), ou bactérias lácticas, são um grupo de microrganismos que possuem um metabolismo fermentativo, ou seja, conseguem fermentar glicose e produzir ácido láctico como produto principal. Além disso, elas são bactérias Gram-positivos, catalase negativos, não formadores de esporos e que geralmente crescem sob condições microaerófilas ou estritamente anaeróbica (BRUNO; 2011).

Apesar das BAL englobarem diferentes gêneros, as mesmas podem ser agrupadas como homofermentativas ou heterofermentativas, de acordo com o produto final da sua fermentação. As homofermentativas produzem ácido láctico como o principal produto da fermentação da glicose. Enquanto, as heterofermentativas, produzem dióxido de carbono, ácido acético e etanol, além do ácido láctico, como produto da fermentação da glicose (LIU et al., 2014).

De forma geral, os gêneros mais estudados e utilizados de BAL são *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus* e *Bifidobacterium* (KLEIN et al., 1998). Estas bactérias são muito empregadas na produção de alimentos, como leites fermentados, iogurtes e queijos, bem como no processamento de carnes, bebidas alcoólicas e vegetais. Para tal, essas bactérias são utilizadas como culturas iniciadoras, adjuntas e protetoras. Logo, são bactérias que vem apresentando grande importância dentro da indústria alimentícia, não só devido aos benefícios que as mesmas geram durante a produção dos alimentos, mas também porque estas podem causar danos ao produto, quando não acompanhadas corretamente, como a produção de aromas e sabores indesejáveis (BRUNO; 2011).

Culturas iniciadoras são bactérias lácticas, as quais são adicionadas em uma formulação alimentícia, na qual é utilizada para iniciar o processo de fermentação, tendo como finalidade melhorar a qualidade sanitária e as características sensoriais, podendo ser constituídas tanto de cultura pura ou cultura mista. Por exemplo, na produção de queijo, uma das características mais



importantes para culturas *starters* é a capacidade de produzir acidez rapidamente (POFFO et al, 2011; ROSICLER et al., 1999).

Já as culturas adjuntas são linhagens de bactérias lácticas que geralmente estão envolvidas na estimulação da proteólise secundária, aumentando a atividade da aminopeptidase, que pode alterar as características sensoriais do produto final (BARROS et al., 2006).

Em adição, as bactérias ácido lácticas podem produzir substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas, sendo utilizadas como culturas bioprotetoras, que são aquelas que além de ácido láctico sintetizam compostos com ação antimicrobiana, conferindo aos produtos maturados e frescos, melhor qualidade sanitária. De modo geral, as culturas bioprotetoras atuam como aditivos naturais no alimento atuando de maneira eficaz na inibição do crescimento de patógenos (ROSICLER et al; 1999).

Além da importância industrial, algumas BAL também são relevantes para a saúde pública, por suas atividades probióticas. (CARR *et al.*, 2002). Ou seja, dentro das várias estirpes das bactérias ácido-láticas algumas são micro-organismos probióticos. Segundo a FAO (2002), probióticos são microorganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do consumidor.

A funcionalidade da linhagem probiótica está ligada à sua capacidade de resistir às condições adversas do trato gastrointestinal (TGI) de seu hospedeiro e de sua habilidade antagonista contra patógenos residentes. Os micro-organismos probióticos devem sobreviver à acidez gástrica e à atividade hidrolítica dos sais biliares e, ainda, ser capazes de reduzir os patógenos aderidos na superfície intestinal, seja pela produção de compostos antagonistas (bacteriocinas e antibióticos) ou pela competição por sítios de adesão (ALVIM, 2011; MORELLI, 2000; SAARELA et al., 2000).

De acordo com a ANVISA, a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) como recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante. Valores menores os estabelecidos podem ser aceitos, desde que a empresa comprove sua eficácia.

Segundo a regulamentação da ANVISA, os probióticos isolados podem ter registro tanto como alimento, quanto como medicamento biológico. Os gêneros e espécies de probióticos aprovados até o momento na Anvisa para alimentos são: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhamnosus*, *Lactobacillus casei variedade defens*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*,

*Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium*.

Os probióticos foram introduzidos no mercado por meio de alimentos convencionais, entretanto, seu consumo se expandiu na forma de suplementos. A maioria deles devem ser mantidos bem refrigerados, de modo a evitar uma alta acidificação, e consequentemente perda da viabilidade da cultura probiótica. Ao serem ingeridos por meio dos alimentos, vão para o intestino e ali se somam à microbiota já existente, sem se fixarem, equilibrando-a e, com isso, auxiliam o trabalho de absorção dos nutrientes (VARAVALLO et al., 2008).

O aumento na procura por alimentos funcionais, com culturas microbianas probióticas, levou a um interesse maior em pesquisas para manter estes micro-organismos viáveis no produto (BURKERT et al., 2012). As maiores populações de micro-organismos probióticos foram observadas nas bebidas com mais baixa acidez e elevado teor de sólidos (THAMER; PENNA, 2005).

De modo geral, as bactérias probióticas têm sido utilizadas em diversas preparações alimentícias, as mais utilizadas pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Os benefícios associados ao consumo regular de probióticos, pode-se observar: capacidade de modular respostas imunitárias sistêmicas, aumento da produção de enzimas que auxiliam na digestão da lactose, efeito hipocolesterolêmico, ação anti-cancerígena, regulação de fezes saudáveis, prevenção de infecções causadas por *Helicobacter pylori*, produção de vitaminas, e entre outros efeitos benéficos (DAZA, 2004; HASLER, 1998; PENNA, et al., 2000; SANTOS et al., 2006).

Na seleção de uma nova linhagem probiótica é importante a observação de suas propriedades tecnológicas. Um produto probiótico deve conter isolados que apresentam rápido crescimento *in vitro*, fácil manipulação, boas condições de produção industrial e que sobrevivam no produto final conservando sua função (PANCHENIAK, 2005). Além disso, deve ser observada a habilidade da cultura em coexistir com a microbiota do hospedeiro (FAO/WHO, 2002).

### **3.3 Produtos probióticos não lácteos**

A escolha da matriz alimentar é fundamental para a determinação da viabilidade dos probióticos durante o processamento e armazenamento. Normalmente utilizam-se produtos lácteos como matriz alimentar, pois possuem um efeito protetor aos micro-organismos (GRANATO, et al; 2010).

No entanto, atualmente surgem outras opções não lácteas para adição de probióticos, como por exemplo, matérias-primas à base de frutas, vegetais, cereais e soja. Porém, durante a produção e armazenamento, a sobrevivência e a estabilidade dos probióticos adicionados ao suco de frutas e/ou vegetais não dependem apenas da matriz alimentar, atividade de água e pH dos produtos finais, mas também na escolha de espécies probióticas selecionadas (CHAIKHAM, et al; 2013).

Segundo o estudo realizado por Sifuentes dos Santos et al., (2008) pode-se observar a sobrevivência do probiótico em produto de base vegetal, no caso, suco de uva suplementado com *Lactobacillus acidophilus* e oligofrutose, adicionando  $10^8$  UFC de *L. acidophilus*/mL e 10% de oligofrutose. Concluindo que esta formulação atingiu o valor estabelecido pela legislação para contagem de bactérias probióticas, que é de  $10^7$  UFC/mL (BRASIL, 2000). A partir desse resultado, foi comparado com os obtidos por Mertínez-Villaluenga et al., (2006), que obteve resultados semelhantes quando analisaram a adição de oligossacarídeos na sobrevivência de probióticos em leite fermentado refrigerado. Logo, pode ser possível afirmar que a presença de oligossacarídeos afeta benéficamente o produto probiótico e que *L. acidophilus* é uma espécie probiótica capaz de sobreviver em produtos cuja base não é láctea, uma das espécies probiótica utilizada no estudo em questão (SIFUENTES DOS SANTOS et al., 2008).

Quando comparada a sobrevivência de espécies probióticas em base láctea com base vegetal, observa-se uma diferença, pois, aquelas em base láctea possui maior facilidade de sobreviver, sustentando sua viabilidade como alimento probiótico por um espaço de tempo maior do que o tempo de viabilidade daqueles alimentos com matriz alimentar vegetal (KOMATSU et al., 2008).

### **3.4 Tamarindo**

O tamarindo pertence à família Leguminosae, sendo uma árvore frutífera a qual pode chegar a 25 m de altura. Gera frutos, os quais são vagens alongadas, que variam de 5 a 15 cm de comprimento, possuindo casca pardo-escura, lenhosa e quebradiça, contendo 3 a 8 sementes envolvidas por uma polpa parda e ácida (DONADIO, 1988).

Normalmente, utiliza-se a polpa do tamarindo no preparo de doces, sorvetes, licores, sucos concentrados e ainda como tempero para arroz, carne, peixe e outros alimentos. Já o consumo dos frutos na forma de xarope, extrato, balas, cápsulas e geleias é uma prática pouco frequente, provavelmente pela carência de informações de suas riquezas nutricionais.

Entretanto, na medicina popular esses frutos são comumente usados como laxativo, no combate a infecções estomacais, inflamações no fígado e vesícula biliar (ABEBE, 2002; GURJÃO, 2006; RIBEIRO, 2013).

A polpa do tamarindo possui fibras solúveis e insolúveis, e elevados teores de minerais como potássio, cálcio, magnésio, fósforo, manganês e zinco (SANTOS et al., 2010). Porém, no Brasil não existem estudos tecnológicos para caracterização da parte comestível do fruto, já que o fruto é pouco explorado (VASCONSCÉLOS E MENEZES, 2007).

O fruto do Tamarindo apresenta componentes bioativos importantes que auxiliam no combate contra doenças, há características tecnológicas e nutricionais importantes para a indústria de alimentos. Quimicamente, na sua composição existem relatos de ácido tartárico, carboidratos, pectinas, pirazinas e tiazóis, e ainda valores expressivos de pectina, um espessante natural bastante empregado na fabricação de doces e geleias (ABEBE, 2002; SANTOS et al., 2010).

Além disso, o estudo da capacidade antioxidante in vitro ou in vivo de compostos presentes naturalmente no tamarindo vem sendo foco de estudos científicos devido ao seu potencial para o tratamento e combate a doenças (SIDDHURAJU, 2007; RAZALI et al., 2012). Alguns estudos mostram que a semente de tamarindo tem apresentado grande potencial antioxidante e esse nível de capacidade antioxidante de materiais vegetais pode variar muito devido a diversos fatores, inclusive às propriedades dos substratos, condições e estágios de oxidação, localização dos antioxidantes nas diferentes fases do processo de oxidação, mesmo se o fruto for colhido da mesma planta e em épocas diferentes (SOUZA et al., 2015). De acordo com a pesquisa de Souza et al., (2015), foi possível observar a presença de uma atividade antioxidante no tamarindo, principalmente nas sementes e que o aumento dessa atividade em questão foi diretamente proporcional à quantidade utilizada (SOUZA et al., 2015).

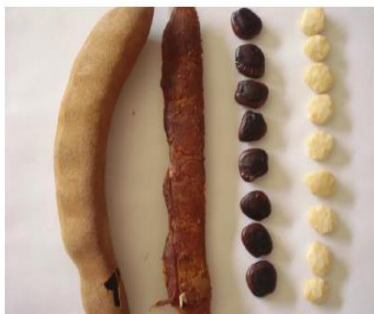


Figura 1- Fruto, polpa, sementes e sementes descascadas do Tamarindo

Fonte: RIBEIRO (2013, p.43).

## **4. Objetivos**

### **4.1 Objetivo geral**

- Desenvolver e caracterizar em termos microbiológicos e de composição química diferentes formulações de mousse de tamarindo vegano como carreador probiótica.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Desenvolver formulações de mousse com diferentes concentrações de polpa de tamarindo;
- Avaliar a composição química das formulações;
- Quantificar minerais (Na, K e Ca) nas diferentes formulações;
- Analisar a presença de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras após o preparo das formulações e após o período de estocagem;
- Determinar o pH das diferentes formulações;
- Realizar análise de cor das diferentes formulações;
- Avaliar o efeito da reidratação do probiótico na viabilidade quando adicionado nas diferentes formulações de mousse;
- Avaliar a sobrevivência do probiótico nas diferentes formulações após exposição a condições de estresse ácido e por presença de sais biliares.

## **5. Metodologia**

### **5.1 Caracterização do estudo**

Trata-se de um estudo de caráter experimental qualitativo e quantitativo.

### **5.2. Ingredientes e elaboração do mousse**

Para a elaboração do mousse vegano foram utilizados os seguintes ingredientes: açúcar cristal (União), amêndoas, mandioca e polpa de tamarindo caseira. Foram preparados quatro tipos de mousse, os quais variaram a concentração de polpa de tamarindo, sendo 0% (controle), 25%, 50% e 75%.

A produção dos produtos seguiu 3 etapas principais, sendo estes o preparo do extrato de amêndoas, da base do mousse e o mousse vegano com diferentes concentrações de tamarindo.

i) preparo do extrato condensado de amêndoas: triturou 88 g de amêndoas no Thermomix <sup>TM</sup> (VORWERK) por 30 segundos. Em seguida, aqueceu 440 mL de água, por 1 minuto e 30 segundos no microondas. A quantidade de açúcar acrescida as amêndoas e água aquecida é 20% do peso final, ou seja, 105 g. Bateu a água aquecida, amêndoas trituradas e o açúcar por 3 minutos no liquidificador (Philips Walita) até homogeneizar. Por fim, condensou o extrato no fogão para reduzir  $\frac{1}{3}$  do extrato, por 28 minutos.

ii) base do mousse: cozinhou 336g de mandioca na panela de pressão com água por 30 minutos após pressão. Após cozida, bateu a mandioca no Thermomix no modo pulverização (sorvete) até chegar a consistência de um creme/purê. Em seguida, misturou 197g de extrato de amêndoas com 327 g de purê de mandioca no Thermomix no modo pulverização (sorvete) por 1 minuto.

iii) mousse vegano com diferentes concentrações de tamarindo: 25% de tamarindo - misturou no Thermomix <sup>TM</sup> 90 g de base com 22,5 g de tamarindo no modo pulverização (sorvete). 50% de tamarindo - misturou no Thermomix 90 g de base com 45 g de tamarindo no modo pulverização (sorvete). 75% de tamarindo - misturou no Thermomix 90 g de base com 67,5 g de tamarindo no modo pulverização (sorvete).

### **5.3 Composição**

Amostras de 10 g dos mousses e também da polpa natural de tamarindo foram utilizadas para determinação da composição. Foram determinados o teor de umidade, proteínas, lipídeos e carboidratos.

#### **5.3.1 Umidade**

Amostras de 4g das quatro preparações e também da polpa de tamarindo foram distribuídas em cadinhos, e em seguida colocadas na estufa a 105°C até o peso constante.

Posteriormente, colocou-se em um dessecador para esfriar, dessa forma, pesou-se, depois de frio, o conjunto cadinho e amostra seca. Assim, descontou-se o peso do cadinho para obter o peso da amostra seca, logo, o peso da água evaporada é a diferença entre o peso da amostra úmida e a amostra seca, dessa forma obteve-se o valor da umidade do produto. Todo procedimento foi realizado em triplicata.

#### **5.3.2 Proteínas**

Pesou-se 0,3g de cada amostra, em seguida, adicionou 1,0 g de mistura digestora mais 3,5mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Aqueceu-se até 450°C no Fotômetro de chama (Labnova) até a mistura se tornar transparente, aproximadamente 40 minutos, deixou esfriar por 30 minutos e adicionar cerca de 1,0-2,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, aqueceu por mais 30 minutos.

Deixou esfriar, lavou as paredes do frasco com água destilada, 10 mL, para aumentar o volume. Adicionou-se 10,5mL de NaOH 40%, aqueceu no aparelho Destilador de Nitrogênio (TECNAL) e recolheu-se o NH<sub>3</sub> EM 7,5 mL de H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub> 4%, deixando destilar cerca de 2/3 do volume inicial. Na destilação a amostra neutralizada entra em ebulição e libera nitrogênio em forma de gás que irá condensar ao entrar em contato ácido bórico, resultando em borato de amônia, que é a forma do nitrogênio que será titulado.

Titulou-se no aparelho Constant temperature magnetic stirrer (BIOMIXER) o NH<sub>3</sub> recolhido com HCl 0,5 N, usando o indicador, 1-2 gotas, até o ponto de viragem. Na titulação, quanto mais nitrogênio estiver livre mais HCl será utilizado para titular o nitrogênio, em uma determinada massa (massa inicial). O volume do HCl gasto para titular é a quantidade de nitrogênio que está presente em uma determinada massa, logo, é a quantidade de proteína que é buscada com esse método. O que determina durante esse processo é a quantidade de nitrogênio, que é a forma química da proteína.

Cálculo para o teor de Nitrogênio

$$\%N = (V \times N \times f \times 14 \times 100) / P$$

V - Volume de HCl gasto na titulação

N = normalidade de HCl

P = peso da amostra (mg)

Cálculo do teor de proteína

$$\%P = \%N \times 6,25$$

### 5.3.3 Lipídeos

Para a análise de lipídeos, pesou-se, aproximadamente 2-4 g de amostra em saco de filtro de papel e selou. Em seguida, colocou-se as amostras na estufa Elektro therm (Linn), e posteriormente pesou-se as amostras secas.

Colocou os sacos de amostra no suporte do saco ou no carrossel e coloque no extractor. Selecionou o tempo de extração e prossiga as instruções do instrumento de extração. Quando o processo de extração concluiu colocou-se as amostras no forno por 15-30 min. Arrefeceu as amostras em bolsa dessecante e pesou-se.

$$\% \text{ de gordura bruta} = 100 (W2 - W3) / W1$$

W1 = Peso original da amostra.

W2 = Peso da amostra pré-seca com o saco de filtro.

W3 = Peso da amostra seca e saco filtrante após a extração.

## 5.4 Minerais

Para a análise de minerais utilizou-se as cinzas das amostras. As cinzas é o nome dado ao resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica.

### 5.4.1 Sódio e Potássio

A partir das cinzas, fez-se a diluição das mesmas em água destilada em balão volumétrico 100 mL. Em seguida, para as determinações dos teores de sódio e potássio foram realizadas em fotômetro de chama AP-1302, de acordo com o método 969.23 (AOAC, 2005). O equipamento foi calibrado de acordo com as soluções-padrão dos minerais analisados (Na e K), conforme concentrações estabelecidas para o equipamento.



### 5.4.2 Cálcio

A partir das cinzas, fez-se a diluição das mesmas em água destilada em balão volumétrico 100 mL. Em seguida, para a determinação do teor de cálcio foram realizadas em fotômetro de chama AP-1302, de acordo com o método 969.23 (AOAC, 2005). O equipamento foi calibrado de acordo com as soluções-padrão dos minerais analisados (Ca), conforme concentrações estabelecidas para o equipamento.

### 5.5 Análise de Cor

A avaliação da cor dos mousses após a preparação foi submetida a avaliação da cor com o auxílio do Espectrofotômetro Modelo ColorQuest XE (HunterLab, Reston, Estados Unidos), obtendo-se os valores das coordenadas L, a e b do sistema Hunter. A partir dos valores das coordenadas L, a e b foram obtidos os parâmetros relacionados à tonalidade da cor ou *hue angle* (h, Equação 1), à saturação da cor ou croma (C, Equação 2) e à diferença de cor ( $\Delta E$ , Equação 3) (Little, 1975; Francis, 1975; Mclellan et al., 1995; Maskan, 2001).

$$h = \arctang(b/a) \quad (1)$$

$$C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (2)$$

$$\Delta E = \sqrt{((L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2)} \quad (3)$$

em que:

*L* - mensurável em termos de intensidade de branco a preto;

*a* - mensurável em termos de intensidade de vermelho e verde;

*b* - mensurável em termos de intensidade de amarelo e azul;

*L*<sub>0</sub>, *a*<sub>0</sub> e *b*<sub>0</sub> - coordenadas obtidas no início da estocagem em cada um dos leites fermentados.

### 5.6 Determinação do pH

A determinação dos pHs das amostras dos diferentes mousses foi determinada utilizando um pHmetro (Even, PHS - 3E). Pesou-se 5g de cada amostra diluiu em 50 mL de água e mediu-se o pH com o aparelho calibrado.

## **5.7 Determinação da vida de prateleira**

### **5.7.1 Preparo das amostras para análise microbiológica**

As quatro formulações obtidas foram submetidas a análise microbiológica após o preparo e com cinco dias de estocagem em refrigeração. Uma quantidade de 10 g de cada amostra foi adicionada em 90 ml de água peptonada a 0,1%. A partir desta diluição foram realizadas outras diluições ( $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ).

### **5.7.2 Análise de mesófilos aeróbios**

Para a quantificação de mesófilos aeróbios nas amostras foi utilizado o meio de cultura ágar padrão. As amostras diluídas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ) foram plaqueadas em placas de Petri contendo ágar padrão pela técnica de plaqueamento *Spread plate*. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 48 h. Após o período de incubação foram selecionadas as placas para determinação do número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) g<sup>-1</sup>.

### **5.7.3 Análise de bolores e leveduras**

Para a quantificação de bolores e leveduras nas amostras foi utilizado o meio de cultura Agar Dicloran Rosa de Bengala Clorofenicol (DRBC). As amostras diluídas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ) foram plaqueadas em placas de Petri contendo DRBC pela técnica de plaqueamento *Spread plate*. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 25 °C por 5 dias. Após o período de incubação foram selecionadas as placas para determinação do número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) g<sup>-1</sup>.

## **5.8 Determinação da viabilidade de probióticos nas diferentes formulações de mousse**

As quatro formulações de mousse (0, 25, 50, 75 % de tamarindo) foram avaliadas como possíveis veículos para incorporar probióticos na forma liofilizada. Foi utilizado um produto simbiótico contendo as seguintes estirpes probióticas: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* e *Bifidobacterium lactis*. O prebiótico adicionado nesta formulação foi frutooligossacarídeos. Os probióticos foram adicionados de quatro formas distintas nas formulações:

- (i) Adição do probiótico em pó diretamente

- (ii) Adição do probiótico reidratado em extrato de amêndoas condensado;
- (iii) Adição do probiótico reidratado em água.

Amostras de 20 g de cada mousse foram adicionadas com probióticos na forma reidratada e também como pó. Em seguida as amostras foram avaliadas quanto à viabilidade do probiótico nas diferentes formulações.

Para análise da viabilidade do microrganismo probiótico foi utilizado o meio de cultura agar MRS. Uma quantidade de 10g das amostras foram adicionadas em 90 mL de água peptonada a 0,1 %. Diluições seriadas foram realizadas na mesma solução diluente até a diluição  $10^{-6}$ . A técnica de plaqueamento utilizada foi a *Drop plate*, sendo as placas imediatamente incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C.

## **5.9. Estresse ácido e sais biliares**

Os experimentos sob condições de estresse ácido e por presença de sais biliares foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Leverrier et al (2005).

### **5.9.1 Estresse ácido**

Uma quantidade de 0,1g de cada preparação dos mousses com diferentes porcentagens de tamarindo foram adicionados a 0,9 mL de solução salina 0,85% com o pH ajustado para 2 com auxílio de uma solução de HCl 5M. O controle deste experimento foi a adição das diferentes formulações de mousse em solução salina 0,85% com pH ajustado para 6,5 com auxílio de uma solução de uma solução de NaOH 1M. Os tratamentos foram incubados a 37 °C por 60 minutos. Após este período os tubos foram centrifugados (8000 rpm, 4 °C, 5 minutos) e o sobrenadante obtido foi eliminado. O sedimento de células obtido foi lavado duas vezes com solução salina 0,85% e novamente centrifugadas nas mesmas condições mencionadas anteriormente. Diluições seriadas foram realizadas na mesma solução diluente até a diluição  $10^{-6}$ . A técnica de plaqueamento utilizada foi a *Drop plate*, sendo as placas imediatamente incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C.

### 5.9.2 Estresse por presença de sais biliares

Uma quantidade de 0,1 g de cada preparação dos mousses com diferentes porcentagens de tamarindo foram adicionados a 0,9 mL de solução de sais biliares 0,3% com pH ajustado para 8,0 com auxílio de uma solução de NaOH 1M. O controle deste experimento foi a adição das diferentes formulações de mousse em solução salina 0,85% com pH ajustado para 6,5 com auxílio de uma solução de uma solução de NaOH 1M. Os tratamentos foram incubados a 37 °C por 30 minutos. Após este período os tubos foram centrifugados (8000 rpm, 4 °C, 5 minutos) e o sobrenadante obtido foi eliminado. O sedimento de células obtido foi lavado duas vezes com solução salina 0,85% e novamente centrifugadas nas mesmas condições mencionadas anteriormente. Diluições seriadas foram realizadas na mesma solução diluente até a diluição  $10^{-6}$ . A técnica de plaqueamento utilizada foi a *Drop plate*, sendo as placas imediatamente incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C.

### 5.10 Estatística

Os resultados foram avaliados utilizando-se a análise de variância e teste de média e posteriormente o teste de Turkey a 5% de probabilidade com o uso do software SigmaPlot v.10 (Systat Software Inc, Erkrath, Germany) utilizando-se em todos os experimentos três repetições.

Na análise da sobrevivência em exposição ao estresse ácido (pH 2,0) foi usado o desenho de Esquema Fatorial 4x2 completamente randomizado, considerando as amostras expostas ao pH 6,5 e pH 2,0. Na análise da viabilidade em meio contendo sais biliares o Esquema Fatorial adotado foi 4x2, em duas concentrações de sais biliares distintas (0% e 0,3%), em dois períodos de incubação (antes e imediatamente depois da incubação a 30 minutos).

## 6. Resultados e discussão

### 6.1. Caracterização da composição e cor das formulações elaboradas com tamarindo.

A composição química da polpa de tamarindo e das formulações de mousse de tamarindo foi determinada (Tabela 1).

**Tabela 1.** Composição química, cor e teor de minerais em mousse elaborado com mandioca, extrato de amêndoa concentrado e polpa de tamarindo

Variáveis	Formulações				
	0%	25%	50%	75%	100%
Composição química					
Umidade (%)	69,95±0,52 <sup>a</sup>	68,19±0,66 <sup>b</sup>	66,87±0,34 <sup>bc</sup>	66,44±0,38 <sup>bc</sup>	64,82±0,67 <sup>c</sup>
Proteínas (%)	0,47±0,02 <sup>a</sup>	0,52±0,04 <sup>a</sup>	0,47±0,01 <sup>a</sup>	0,43±0,02 <sup>a</sup>	0,48±0,02 <sup>a</sup>
Lipídeos (%)	1,61±0,39 <sup>a</sup>	1,54±0,12 <sup>a</sup>	1,66±0,20 <sup>a</sup>	1,82±0,13 <sup>a</sup>	1,91±0,33 <sup>a</sup>
Cinzas (%)	0,27±0,03 <sup>a</sup>	0,65±0,06 <sup>a</sup>	0,60±0,14 <sup>a</sup>	0,61±0,07 <sup>a</sup>	2,55±0,30
Carboidratos (%)	28,01±0,92 <sup>a</sup>	29,10±0,60 <sup>ab</sup>	30,41±0,38 <sup>b</sup>	30,70±1,41 <sup>b</sup>	30,24±0,42 <sup>b</sup>
Minerais					
Na (mg 100g <sup>-1</sup> )	3,24±0,24 <sup>b</sup>	5,70±0,73 <sup>a</sup>	5,64±0,38 <sup>a</sup>	5,75±0,79 <sup>a</sup>	5,68±0,70 <sup>a</sup>
K ((mg 100g <sup>-1</sup> )	193,81±10,64 <sup>d</sup>	246,54±10,89 <sup>c</sup>	436,10±33,06 <sup>b</sup>	457,97±12,30 <sup>b</sup>	653,34±16,26 <sup>a</sup>
Ca (mg 100g <sup>-1</sup> )	197,33±8,00 <sup>c</sup>	278,45±11,64 <sup>d</sup>	321,81±6,88 <sup>c</sup>	372,01±1,90 <sup>b</sup>	524,59±13,43 <sup>a</sup>
Cor					
L*	86,29±0,67 <sup>a</sup>	62,88±0,28 <sup>b</sup>	56,88±0,33 <sup>c</sup>	54,29±0,23 <sup>d</sup>	42,95±1,01 <sup>e</sup>
C*	22,75±0,50 <sup>a</sup>	22,22±0,09 <sup>ab</sup>	21,38±0,18 <sup>b</sup>	21,53±0,57 <sup>b</sup>	11,55±0,17 <sup>c</sup>
h°	85,09±0,09 <sup>a</sup>	68,03±0,20 <sup>b</sup>	64,34±0,46 <sup>c</sup>	63,31±0,49 <sup>d</sup>	54,93±0,32 <sup>e</sup>

Médias seguidas de mesma letra minúscula na linha não diferem pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade;

Na – Sódio; K – Potássio; Ca – Cálcio;

L\* – Luminosidade; C\* - Chroma ou saturação de cor; h° - tonalidade de cor.

Observa-se que a adição de polpa de tamarindo na mistura base (mandioca e amêndoas) proporciona uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) do teor de umidade das formulações. Tal redução é acentuada à medida que adicionada maior quantidade de tamarindo. A redução da umidade das formulações ocorreu devido à incorporação de nutrientes provenientes do tamarindo, que eventualmente se ligam a água livre do alimento, ocasionando redução da atividade de água do mousse e consequentemente da umidade do alimento. Esta redução da umidade é importante do ponto de vista de conservação de alimentos, quando se pretende inibir o crescimento microbiano.

O teor de carboidrato das formulações de mousse também se elevou-se significativamente ( $p < 0,05$ ) com o aumento da adição de tamarindo. Observa-se que a base utilizada na formulação dos mousses apresenta alto teor de carboidrato. Entretanto, a adição de tamarindo conferiu uma diferença estatística em relação à formulação base, no qual aumentou o teor de carboidrato em torno de aproximadamente 2%, provavelmente, devido ao fato do tamarindo ser constituído principalmente por carboidratos e minerais, nutricionalmente falando.

Com relação ao teor de proteínas, lipídeos e cinzas a adição de polpa de tamarindo, independentemente da quantidade, não proporcionou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as formulações.

As formulações de mousse também foram avaliadas quanto a presença dos minerais sódio (Na), potássio (K) e cálcio (Ca) (Tabela 1). Observa-se um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) nas formulações elaboradas com polpa de tamarindo. No entanto, este aumento não é negativo ao produto, pois mesmo as quantidades de sódio encontradas em 100g do produto não fornecer um efeito maléfico ao consumidor. Visto que a recomendação diária de sódio segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) é de 2 gramas de sódio por dia, podemos observar que a formulação a qual possui maior concentração de tamarindo, 75%, apresenta consequentemente maior concentração de sódio, no entanto, isto representa 0,28% da recomendação de sódio diária, não sendo significativo no consumo total do dia.

Em relação ao teor de K nas formulações de mousse observa-se que o aumento do teor de K é proporcional ao aumento da polpa de tamarindo. Esta relação era esperada visto que a polpa de tamarindo é um alimento rico em potássio. Segundo a OMS, a recomendação diária de potássio para um indivíduo adulto é de no mínimo 3500 mg por dia, neste sentido podemos notar que a formulação com menos tamarindo, 25%, em 100g de produto há 7,6% da recomendação diária de K, e quando analisa-se a formulação com maior teor de tamarindo, 75%, em 100g há o equivalente a 13% da recomendação total diária.

Visto que o mousse, pode ser consumido como um lanche, que normalmente representa 15% do VET diário ou como uma sobremesa, pode-se notar que as concentrações de potássio fornecidas por estas preparações de mousse são representativas para alcançar as recomendações diárias. O que é muito benéfico ao indivíduo, pois, o potássio é um mineral essencial para a realização de funções celulares, sendo responsável por várias reações orgânicas como transporte de oxigênio, facilitação da conversão da glicose em glicogênio pelo fígado, auxílio na contração muscular, regulação osmótica e entre outras (BAPTISTA; SILVA, 2014).

Do mesmo modo que o K, o aumento do teor de (Ca) é significativamente ( $p < 0,05$ ) proporcional ao aumento de tamarindo nas formulações. Segundo a OMS, a recomendação diária de cálcio média para um indivíduo adulto é de aproximadamente 1000 mg por dia, variando de acordo com a faixa etária e sexo, neste sentido podemos observar que a formulação com menor concentração de tamarindo, 25%, apresenta em 100g de produto 27,8% da recomendação diária de Ca, e quando analisa-se a formulação com maior teor de tamarindo, 75%, em 100g há o equivalente a 37,2% da recomendação total diária.

Vale ressaltar que, segundo estudos, as dietas vegetarianas e veganas podem resultar na deficiência de algumas vitaminas e minerais, entre eles está o cálcio. Além disso, indivíduos que apresentam intolerância lactose e alergia a proteína do leite de vaca, também apresenta uma maior tendência a deficiência deste mineral (BALL; ACKLANDO, 2000; WILSON; BALL; 1999). Sendo uma grande dificuldade para estes públicos, alcançar as recomendações de Ca diária, o mousse pode colaborar de forma significativa para favorecer o aumento de ingestão deste mineral por estes indivíduos.

Por fim, ao analisar a cor pode-se notar que esta depende de 3 variáveis, a luminosidade, saturação de cor e a tonalidade. A luminosidade diz respeito se a amostra é clara ou escura, dessa maneira,  $L = 0$  corresponde ao preto e  $L = 100$  corresponde ao branco. Assim, ao analisar a adição de tamarindo a mistura base do mousse pode-se observar que há uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) na luminosidade, o que era esperado, pois o tamarindo puro, 100%, apresenta luminosidade igual a 42. Assim sendo, verifica-se que o tamarindo influenciou diretamente na luminosidade da preparação final do mousse.

Já a saturação de cor, quanto maior o valor de c mais intensa é a cor. Dessa maneira, ao comparar a base do mousse, 0%, e o tamarindo, 100%, pode-se notar que a base possui saturação de cor maior que a do tamarindo. Nesse contexto, ao analisar o efeito da adição de tamarindo é possível observar um aumento significativo ( $p < 0,05$ ), no entanto, ao comparar o resultado final da preparação é notório que a adição do fruto não foi determinante na

intensidade da cor, ou seja, a base do mousse foi o elemento que influenciou diretamente na saturação de cor da preparação final.

Por outro lado, ao comparar a tonalidade da base do mousse, 0%, e o tamarindo, 100%, pode-se notar que a base possui tonalidade superior ao tamarindo. Dessa maneira, ao acompanhar o efeito da adição de tamarindo a preparação é perceptível uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) neste parâmetro. Logo, observa-se que houve um efeito pronunciado da adição de tamarindo a formulação, sendo um fator que afetou diretamente na tonalidade final do mousse adicionado de tamarindo.

De forma geral, é notório que a cor da formulação final de mousse acrescido de tamarindo possui influência tanto da base do mousse quanto do fruto adicionado.

## 6.2. Avaliação do meio de reidratação do probiótico liofilizado após a incorporação nas diferentes formulações de mousses de tamarindo.

O efeito de diferentes soluções de reidratação da cultura probiótica liofilizada sobre a sobrevivência após a incorporação nas diferentes formulações de mousses de tamarindo foram avaliadas (Tabela 2).

**Tabela 2** – Efeito do meio de reidratação do probiótico liofilizado após a incorporação nas diferentes formulações de mousse de tamarindo.

Tratamentos	Formulações			
	0%	25%	50%	75%
Pó	7,65±0,35	7,26±0,57	7,64±0,12	7,40±0,04
Água	7,03±0,52	7,82±0,18	7,58±0,04	7,72±0,22
Amêndoa	7,74±0,25	7,52±0,06	8,00±1,00	8,04±0,84

Observa-se que a reidratação do probiótico liofilizado em água ou extrato de amêndoas não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quanto à sobrevivência após a incorporação nas diferentes formulações de mousse, em relação à adição direta do produto probiótico liofilizado nas formulações. O procedimento de reidratação de micro-organismos desidratados é uma etapa utilizada para o micro-organismo se recuperar dos danos ocasionados pelo processo de liofilização. O tipo de diluente e o tempo de reidratação são fatores importantes para recuperação da viabilidade da cultura (ZHO & ZHANG, 2005). Os resultados obtidos



demonstram que a reidratação não traz efeitos positivos nem negativos quanto à sobrevivência da cultura probiótica quando adicionada nas diferentes formulações de mousse, sendo neste caso um procedimento que pode ser dispensado quando se pretende incorporar a cultura em mousse de tamarindo.

Além da questão da reidratação, observa-se que o aumento da porcentagem de tamarindo nas formulações de mousse não afetou significativamente ( $p>0,05$ ) a viabilidade da cultura probiótica independentemente de ter sido submetido ao procedimento de reidratação. A polpa de tamarindo utilizada apresentou um pH de 2,47 e quando adicionado na mistura base do mousse nos percentuais de 25, 50 e 75 % o pH foi de 3,62, 3,36 e 3,15, respectivamente. Apesar das formulações dos mousses de tamarindo apresentarem baixo pH, observa-se que esta condição não comprometeu a viabilidade da cultura probiótica quando imediatamente incorporada nas formulações.

### 6.3. Sobrevivência da cultura probiótica exposta ao estresse ácido e por presença de sais biliares

A sobrevivência do probiótico presente nas diferentes formulações de mousse ao estresse ácido foi avaliada (Tabela 3)

**Tabela 3** – Sobrevivência da cultura probiótica adicionada nas diferentes formulações de mousse a condição de estresse ácido.

pH	Formulações				
	0%	25%	50%	75%	Crepe
6,5	7,64±0,02 <sup>Aa</sup>	7,56±0,06 <sup>Aab</sup>	6,85±0,28 <sup>Ac</sup>	6,33±0,18 <sup>Ad</sup>	7,15±0,24 <sup>Abc</sup>
2,0	7,70±0,05 <sup>Aa</sup>	7,10±0,21 <sup>Bb</sup>	6,10±0,10 <sup>Bc</sup>	6,25±0,24 <sup>Ac</sup>	7,10±0,04 <sup>Ab</sup>

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As bactérias ácido lácticas são expostas ao estresse ácido durante sua fermentação, quando, em contato com o pH ácido, ou seja, com o ácido clorídrico, presente no estômago, este se difunde, conseguindo atravessar a membrana celular e adentrar no citoplasma, dissociando e liberando prótons, acidificando o meio intracelular, reduzindo a atividade ácido-sensível, podendo causar danos nas proteínas e na fisiologia celular, interferindo no

funcionamento da membrana celular e prejudicando processos essenciais à sobrevivência da célula (DE ANGELIS; GOBBETTI, 2004).

Observa-se de forma geral que a cultura probiótica presentes nas diferentes formulações apresentaram alta sobrevivência quando exposta ao estresse ácido (pH 2,0). O aumento do percentual de tamarindo contribuiu com o aumento da sensibilidade ao estresse ácido. Mas este decréscimo observado na viabilidade da cultura probiótica nas formulações com 50 e 75 % de tamarindo, embora seja significativamente diferente ( $p > 0,05$ ) das demais formulações, é uma redução que não compromete a funcionalidade do produto probióticos com 50 e 75 % de tamarindo quando exposto ao pH 6,5 (controle). No caso desta condição controle é provável que a própria acidez da formulação possa ter levado a perda de viabilidade. Observa-se que a perda de viabilidade da cultura probiótica nas formulações com 50 e 75 % de tamarindo não foi alta quando exposta ao estresse ácido (pH2).

É provável que a cultura probiótica adicionada aos mousses de tamarindo tenha sofrido algum tipo de alteração fisiológica relacionada à adaptação ao estresse ácido na própria formulação com tamarindo. Quando um micro-organismo sofre esta adaptação ao estresse ácido é esperado o aumento da sobrevivência a uma condição de estresse considerada letal para o micro-organismo.

Uma possibilidade que tal decréscimo expressivo não tenha ocorrido é pelo fato de que algumas bactérias tenham uma resposta a condição de adaptação de estresse, ou seja, as bactérias conseguem se adaptar a uma condição ácida do alimento. Uma expressão gênica pode ter ocorrido, gerando um estado resistência a uma situação que é mais letal para o microrganismo em questão e por isso que o decréscimo da viabilidade não foi tão acentuado em pH 2,0. Uma outra possibilidade é que o alimento em si pode ter contribuído para o aumento do pH, que antes era 2,0, e com um pH maior, pode estar associado à sobrevivência que foi observada.

A tolerância das bactérias ácido lácticas ao ácido aumenta em pelos menos três estados fisiológicos: i) durante a fase exponencial uma resposta adaptativa referida às proteínas ácido resistentes que estão presentes nas bactérias lácticas, que pode ser induzida através da incubação em um pH ácido não letal; ii) depois de entrar na fase estacionária, a tolerância aumenta como resultado da indução a uma resposta de um estresse geral; iii) a resposta é normalmente independente do pH externo. O crescimento em biofilmes pode estar associado quanto a isso (SILVA, 2012).

A análise da sobrevivência do probiótico em pH foi realizada com o intuito de avaliar o microrganismo, observando se há um aumento ou diminuição da sobrevivência às condições

do organismo, no estômago, por exemplo, na qual o pH é bastante ácido. Caso não sobrevivesse, provavelmente, o mousse de tamarindo adicionado de probiótico não seria um produto probiótico, já que as bactérias não sobreviveriam, não causando nenhum efeito sobre o indivíduo. Por esse mesmo motivo, não se deve ingerir probiótico em jejum, pois a condição de estresse com pH 2,0 que seria exposto no estômago, pode afetar a sobrevivência dos mesmos. O alimento, portanto, é um protetor para a cultura probiótica, pois o pH não estará tão ácido, quanto estaria se estivesse em jejum, já que neutraliza em partes, o pH do suco gástrico (TRIPATHI & GIRI, 2014).

Para o creme, também foi adicionado o probiótico ao produto, com o intuito de consumo imediato e mesmo o probiótico ter sido liofilizado a perda de viabilidade do mesmo não foi significativa. Logo, uma possibilidade que pode-se inferir é que foi o tempo curto de exposição à matriz do alimento ou o microrganismo já possui uma resistência natural ao ambiente ácido, a partir da existência do mecanismo de resposta ao estresse ácido como mencionado anteriormente. Outra possibilidade também é o fato de o alimento ser ácido, quando exposto ao pH ácido do estômago, o microrganismo já estava adaptado.

A sobrevivência da cultura probiótica em formulações de mousse de tamarindo foram avaliadas quando expostas ao estresse devido a presença de sais (Tabela 4).

**Tabela 4** – Sobrevivência da cultura probiótica em diferentes formulações de mousses expostas a condições de estresse pela presença de sais biliares.

Tratamento	Formulações				
	0%	25%	50%	75%	Creme
Controle 1 (zero)	7,66±0,02 <sup>Aa</sup>	7,72±0,09 <sup>Aa</sup>	7,07±0,76 <sup>Aab</sup>	6,54±0,72 <sup>Ab</sup>	7,65±0,06 <sup>Aa</sup>
Controle 2 (sem)	7,64±0,02 <sup>Aa</sup>	7,56±0,06 <sup>Aab</sup>	6,85±0,28 <sup>ABc</sup>	6,33±0,18 <sup>Ad</sup>	7,15±0,24 <sup>ABc</sup>
Sais	7,46±0,15 <sup>Aa</sup>	6,31±0,03 <sup>Bb</sup>	6,31±0,08 <sup>Bb</sup>	6,24±0,12 <sup>Ab</sup>	7,56±0,04 <sup>Aa</sup>

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e mesma letra minúscula na linha não diferem pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A sensibilidade à sais biliares, no intestino delgado, ocorre, devido a ação detergente dos mesmos à membrana celular, que é constituída de lipídios e ácidos graxos das bactérias. O estresse causado pela bile é influenciado pela condição encontrada no ambiente externo ou no hospedeiro anterior ao intestino em questão. Ou seja, a bactéria quando exposta a vários níveis de pH, temperatura, por exemplo, podem melhorar a resistência aos efeitos deletérios da bile

ou aumentar a susceptibilidade. A presença de alimentos também afeta a sobrevivência das bactérias, quando relacionadas ao estresse de sais biliares (ALMEIDA JÚNIOR, 2015).

O controle no tempo zero de exposição aos sais biliares não houve diferença significativa, logo, esse contato imediato do probiótico com sais biliares não afeta a viabilidade do microrganismo, considerando o tamanho da população presente, apesar de apresentar variações à medida que aumenta a quantidade de tamarindo. Já o controle sem adição de sais biliares obteve algumas variações à medida que aumenta a quantidade de tamarindo.

O produto, adicionado de sais biliares e com análise não de imediato, é possível observar que se torna mais sensível do que o controle sem adição de sais biliares, entretanto não foi algo significativos em termos da população microbiana em si, não comprometendo o produto desenvolvido de ser utilizado como carreador probiótico, apesar de apresentar diferença significativa estatisticamente falando.

Uma pré-exposição das bactérias a baixos níveis de ácidos biliares pode auxiliar na tolerância à níveis elevados dos mesmos, assim como uma pré-exposição a um estresse pode conferir proteção contra outros estresses, o que é chamado de adaptação cruzada (ALMEIDA JÚNIOR, 2015). Logo, como foi observado uma tolerância ao estresse ácido, pode ter conferido uma proteção para o estresse biliar.

Para o creme, quanto aos sais biliares, os microrganismos, geralmente, são mais sensíveis, entretanto, a diferença não foi tão elevada por ser um produto de consumo imediato, logo o contato foi imediato para análise em questão. Apesar desse resultado, habitualmente, as bactérias, quando expostas a um ambiente ácido, se tornam mais sensíveis na presença de sais biliares. Como mencionado anteriormente, o mecanismo de ação dos sais biliares é dissolver lipídeos, e no caso, esse mecanismo não ocorreu por ser um produto para uso imediato e por isso, a diferença não foi tão significativa. Todavia, não se pode afirmar ainda se esse resultado permanece caso o probiótico fique em contato por um período de tempo maior com essa matriz alimentar.

#### **6.4. Análise de mesófilos e bolores e leveduras**

As formulações de mousse de tamarindo sem adição de probiótico foram avaliadas quanto a presença de micro-organismos mesófilos aeróbios e bolores e leveduras após o preparo e com 5 dias de estocagem sob refrigeração (Tabela 5).

**Tabela 5** – Análises de mesófilos aeróbios e bolores e leveduras das formulações de mousse.

Dias	Formulações			
	0%	25%	50%	75%
Bolores e leveduras (log UFC g <sup>-1</sup> )				
0	< 1,0,0*	< 1,0*	< 1,0*	< 1,0*
5	< 1,0*	< 1,0*	< 1,0*	< 1,0*
Mesófilos aeróbios (log UFC g <sup>-1</sup> )				
0	< 1,0*	< 1,0*	< 1,0*	< 1,0*
5	7,85	< 1,0*	< 1,0*	< 1,0*

\*Valores estimados

A população de bolores e leveduras em todas as formulações após o preparo apresentou baixa, e após 5 dias de estocagem sob refrigeração a população contaminante manteve-se baixa. A população de mesófilos aeróbios presente em todas as formulações logo após o preparo também apresentou valores baixos. Entretanto, com 5 dias de estocagem somente a mistura base sem adição de tamarindo apresentou alto nível de contaminação. Observa-se que a mistura base foi submetida à cocção, mas mesmo assim apresentou alto nível de contaminação com 5 dias de estocagem. A polpa de tamarindo não pasteurizada não contribui para o aumento da população contaminante, pelo contrário, exerceu papel de um composto com ação antimicrobiana durante o período de estocagem. A polpa de tamarindo pelo fato de apresentar alta acidez pode ter contribuído na redução da presença de contaminantes. Na literatura há poucos estudos com tamarindo, mas é provavelmente que compostos com ação antimicrobiana, além de ácido, estejam presentes e com isso contribuindo também na redução da carga microbiana contaminante.

Até o presente momento não há estudos acerca da avaliação da atividade antimicrobiana do tamarindo, entretanto, o resultado obtido a partir da análise de mesófilos, provavelmente, além da acidez do próprio fruto, pode possuir outros compostos com ação antimicrobiana que favoreceram a redução observada. Um exemplo é o caso de frutos que foram estudados, pequi, buriti e baru, avaliando suas ações antimicrobiana a partir da presença desses compostos antimicrobianos. Comprovou-se que para o produto desenvolvido com os óleos dos três frutos já mencionados, todos obtiveram atividade antimicrobiana, seja na ação inibitória mínima,

como na bactericida e fungicida mínima, sendo o óleo de buriti com maior atividade antimicrobiano, quando comparado os três frutos (SOARES et al., 2014).

Como é um produto com baixo crescimento microbiano, não tem a necessidade de se pasteurizar o alimento e isso leva a uma alta quantidade de vitaminas e compostos fenólicos presentes no produto final, visto que foi utilizado um agente conservante natural, no caso, o tamarindo, sem a necessidade de trabalhar com tratamento térmico.

## **7. Considerações Finais**

Através da avaliação dos resultados obtidos percebe-se que é possível desenvolver um produto, no caso, mousse de tamarindo vegano probiótico.

Pode-se concluir que o produto desenvolvido, mousse vegano de tamarindo, pode ser utilizado como um carreador probiótico, sendo um produto com características antimicrobianas, isentando-o do procedimento de pasteurização, além de ser uma excelente fonte de carboidrato, cálcio e potássio, podendo se tornar uma ótima opção para aqueles que escolhem ou possuem restrições alimentares.

## 8. Referências Bibliográficas

ABEBE, W. Herbal medication: potential for adverse interactions with analgesic drugs. **Journal of Clinical Pharmacy & Therapeutics**. v. 27, p. 391-401, 2002.

ALMEIDA, L. S. “Nem peixe”: práticas e relações sociais na culinária vegana. 2015.

ALMEIDA JÚNIOR, W. L. G. **Seleção de Bactérias do Ácido Lático (BAL) autóctones de leite caprino com potencial probiótico e avaliação funcional em queijo caprino artesanal**. Petrolina, 2015. Tese de Mestrado.

ALVIM, L. B. **Identificação molecular e seleção de bactérias lácticas com potencial probiótico isoladas de diferentes mucosas de suínos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2011.

ANVISA, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p\\_p\\_id=101&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&\\_101\\_struts\\_action=%2Fasset\\_publisher%2Fview\\_content&\\_101\\_assetEntryId=2864062&\\_101\\_type=content&\\_101\\_groupId=219201&\\_101\\_urlTitle=probioticos&inheritRedirect=true](http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2864062&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=probioticos&inheritRedirect=true). Acessado em Setembro de 2018.

BARBOSA, C. R.; ANDREAZZI, M. Intolerância à lactose e suas consequências no metabolismo do cálcio. **Revista Saúde e Pesquisa**, v.4, n.1, p.81-86, jan/abr, 2011.

BARROS, C. M. V. et al. Efeito do uso de cultura adjunta (*Lactobacillus helveticus*) na proteólise, propriedades viscoelásticas e aceitação sensorial de queijo prato light. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 26, n. 1, p. 11-18, 2006.

BAPTISTA, F. C. B.; SILVA, L. L. Desenvolvimento de emulsão cremosa para reposição de eletrólitos em humanos. **Cad. da Esc. de Saúde**, Curitiba, v. 1, n. 7, p. 209-217, 2012.



BALL M. J.; ACKLAND M. L. Zinc intake and status in australian vegetarians. **Br J Nutr.** 2000; 83(1): 27-33.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Resolução nº05, de 13 de novembro de 2000.** Padrão de identidade e qualidade de leites fermentados. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, p. 2000.

BRUNO, L. M. Manual de curadores de germoplasma-micro-organismos: bactérias ácido-láticas. **Embrapa Agroindústria Tropical-Documentos (INFOTECA-E)**, 2011.

BURKERT, J. F. de M. Aceitação sensorial de bebidas lácteas potencialmente simbióticas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 4, p. 325-332, 2012.

CALDEIRA, F.; DA CUNHA, J.; FERREIRA, M. G. Alergia a Proteínas de Leite de Vaca. **Acta Medica Portuguesa**, v. 24, n. 4, 2011.

CARR, F. J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The acid lactic bacteria: A literature survey. **Critical Reviews in Microbiology**, [S. I.], v. 28, n. 4, 2002.

CARVALHO M. **Isolamento e caracterização de bacteriocinas com potencial interesse na área alimentar.** 2015. Dissertação (Mestrado) – Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal.

CHAIKHAM, P.; APICHARTSRANGKON, A.; WORAMETRACHANON, S.; SUPRADITAREPORN, W.; CHOKIATIROTE, E.; VAN DER WIELE, T. Activities of free and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* LA5 or *Lactobacillus casei* 01 in processed longan juices on exposure to simulated gastrointestinal tract. **J. Sci. Food Agric.** 2013, 93, 2229–2238.

CHAMPAGNE, C.P.; GARDNER, N.J.; ROY, D. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.45, p.61-84, 2005.

DAZA, G. J. G. **Los probióticos. Uma alternativa em El tratamiento de enfermedades,** Argentina, 2004.

DE ANGELIS, M.; GOBBETTI, M. **Environmental stress responses in *Lactobacillus*: a review**. *Proteomics*, v. 4, n. 1, p. 106-122, 2004.

DE OLIVEIRA, M. N. et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, p. 1-21, 2002.

DONADIO, L. C.; NACHTIGAL, J. C.; SACRAMENTO, C. K. do. **Frutas exóticas. Jaboticabal: FUNEP**, 1988, 279p.

FAOSTAT. **Agricultural production; agriculture & food trade**. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/home/E> . Acesso em: setembro de 2018;

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization. **Organization Guidelines for Evaluation of Probiotics in Food**, London, Ontario, Canadá, p. 1 – 11, 2002

GASPARIN, F. S. R.; TELES, J. M.; ARAUJO, S. C. Alergia à proteína do leite de vaca versus intolerância à lactose: as diferenças e semelhanças. **Revista Saúde e Pesquisa**, v.3, n.1, p.107-114, jan/abr, 2010.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. F.; SHAH, N. P. Probiotic Dairy Products as Functional Foods. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2010, 9, 455–470

GURJÃO, O. C. K. et al. Desenvolvimento de frutos e sementes de tamarindo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 351-354, 2006.

HASLER, C. M. Functional Foods: Their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology, Scientific Status Summary**, v. 52, n 11, p. 63-68, 1998.

KLEIN, G.; PACK, A.; BONAPARTE, C.; REUTER, G. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, [S. I.], v. 41, n. 2, p. 103- 125, 1998.

KOMATSU, T. R. et al. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 3, p. 329-347, 2008.

LAHTINEN, S. et al. (Ed.). **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. CRC Press, 2011.

LEVERRIER et al. In vitro tolerance to digestive stresses of propionibacteria: influence of food matrices. **Food Microbiology**, v. 22, n. 1, Jan 2005, p. 11-18.

LIU, W. et al. Biodiversity of Lactic Acid Bacteria. In: ZHANG, H.; CAI, Y. **Lactic Acid Bacteria: Fundamentals and Practice**. Dordrecht: Springer Science+Business, 2014. p. 103-203.

MATTAR, R. MAZO, D. F. C. Intolerância à lactose: mudança de paradigmas com a biologia molecular. **Revista Assoc. Med. Bras.**, p.230-236, 2010.

MENDONÇA, R. B. et al. Teste de provocação oral aberto na confirmação de alergia ao leite de vaca mediada por IgE: qual seu valor na prática clínica? **Revista Paulista de Pediatria**, v. 29, n. 3, p. 415-422, 2011.

MILANI, L. I. G. et al. Bioproteção de lingüiça de frango. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 23, n. 2, p. 161-166, 2003.

MIN, et al. **Effect of non-dairy food matrices on the survival of probiotic bacteria during storage**. *Microorganisms*, v. 5, n. 3, p. 43, 2017.

MORELLI, L. In vitro selection of probiotic *lactobacilli*: a critical appraisal. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, Norfolk, v. 1, n. 2, p. 59 - 67, 2000.

NUNES, M. et al. **Alergia Alimentar**. 2012.

PANCHENIAK, E. F. R. **Isolamento, seleção, caracterização bioquímica e molecular para produção e avaliação do potencial probiótico de *Lactobacillus reuteri* LPB P01-001 em suínos.** 154 f. Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Paraná, 2005.

PENNA, F. J. et. al. Bases experimentais e clínicas atuais para o emprego dos probióticos. **Jornal de Pediatria**, v. 76, p. 209-217, 2000.

PEREIRA, M. Como ser vegano na terra do churrasco? O enquadramento da viabilidade de prognóstico do movimento pelos direitos animais em Porto Alegre. In: MASSAU, G. C.; RODRIGUES, L. P.; COELHO, G. B. (Org.). **Diversidade Sociológica – Facetas da pesquisa em sociologia.** Porto Alegre: EDIPUCRS, 2014, p. 131-154

POFFO, F.; CASTRO DA SILVA, M. A. **Caracterização taxonômica e fisiológica de bactérias ácido-láticas isoladas de pescado marinho.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 31, n. 2, 2011.

RAZALI, N.; MAT-JUNIT, S.; ABDUL-MUTHALIB, A. F.; SUBRAMANIAM, S.; ABDUL-AZIZ, A.; Effects of various solvents on the extration of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. **Food Chemistry**, v. 131, p. 441-448, 2012

RIBEIRO, J. A. N. C. **Ação Sacietogênica de um inibidor de tripsina da semente de tamarindo (*Tamarindus indica* L.).** 2013. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

ROSICLER; BALDUINO; OLIVEIRA, A. S.; DE OLIVEIRA, HAULY M. C. Cultura láctica mista com potencial de aplicação como cultura iniciadora em produtos cárneos. **Food Science and Technology**, v. 19, n. 3, p. 356-362, 1999.

ROSS, R. P.; DESMOND, C.; STANTON, C. Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. **J. Appl. Microbiol.**, v.98, p.1410-1417, 2005

SANTOS, T. dos et al. **Produção e avaliação sensorial de produtos elaborados com o fruto do tamarindo (*Tamarindus indica* L.)**. In: CONNEPI 5º.,2010. Petrolina. Anais

SANTOS, E. F. et al. Alimentos funcionais. **Revista de Pesquisas Biológicas da UNIFEV**, n 1, p.13-19, 2006.

SAARELA, M. et al. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology, Amsterdam**, v. 84, p. 197 - 215, 2000.

SANTOS. T; SILVA. I.R.; AZEVEDO. L.C.; RAMOS. M.E.C. **Produção e avaliação sensorial de produtos elaborados com o fruto do tamarindo (*Tamarindus indica* L.)**. Sistema de Gerenciamento de Conferências (OCS). In - V CONNEPI-2010, 2010.

SIFUENTES DOS SANTOS, J. et al. Suco de uva suplementado com *Lactobacillus acidophilus* e oligofrutose. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 4, 2008.

SILVA, A. C. C. et al. Alimentos contendo ingredientes funcionais em sua formulação: revisão de artigos publicados em revistas brasileiras. **Conexão Ciência (Online)**, v. 11, n. 2, p. 133-144, 2016.

SILVA, L. J. M. **Isolamento e caracterização bioquímica das bactérias do ácido láctico do queijo São Jorge DOP**. 2012. Tese de Doutorado.

SIDDHURAJU, P.; **Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated *Tamarindus indica* seed coat**. **LWT**, v. 40, p. 982-990, 2007.

SOARES, N, R. et al. **Avaliação da atividade antimicrobiana e caracterização físico-química de sabonete líquido à base de óleo de baru, buriti e pequi**. Dissertação de Mestrado. 2014.

SOUZA, D. S. et al. **Caracterização e avaliação da capacidade antioxidante da polpa liofilizada enriquecida com extrato aquoso da semente de tamarindo (*Tamarindus indica*)**. 2015.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 03, 2005.

TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of functional foods**, v. 9, p. 225-241, 2014.

VARAVALLO, M. A. et al. Aplicação de bactérias probióticas para profilaxia e tratamento de doenças gastrointestinais. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 83-104, 2008.

VASCONCELOS B.M; MENEZES H. C. **Caracterização do tamarindo (*tamarindus indica*) e estudo da extração e estabilidade da polpa**. Faculdade de Engenharia de Alimentos - FEA, UNICAMP, 2007.

WILSON A. K., BALL M. J. Nutrient intake and iron status of Australian male vegetarians. **Eur J Clin Nutr.** 1999; 53(3):189-94.

ZHAO, G.; ZHANG, G. Effect of protective agents, freezing temperature, rehydration media on viability of malolactic bacteria subjected to freeze-drying. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, n. 2, p. 333-338, 2005.